

**Schnellbestimmungen der Blutglucose
durch reflektometrische
Auswertung von Teststreifen**

Bernd Simon

1972

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. W. Seitz

SCHNELLBESTIMMUNGEN DER BLUTGLUCOSE
DURCH REFLEKTOMETRISCHE AUSWERTUNG VON TESTSTREIFEN

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt von

Bernd Simon
aus München

München 1972



Berichterstatter: Prof. Dr. H. Mehnert
Mitberichterstatter: Prof. Dr. W. Seitz
Dekan: Prof. Dr. Spann

Tag der mündlichen Prüfung 25. Juli 1972

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

I. VORWORT 1

II. MATERIAL DER SPRACHE

1. Lautschrift 2

2. Lautverbindungen 3

3. Wortbildung 4

4. Satzlehre 5

5. Grammatik 6

6. Fachsprache 7

III. VERFAHREN

Meiner Frau Angelika

in Liebe gewidmet 10

7. Abkürzungen und Zeichen 11

IV. DISKUSION

1. Beschreibung der verschiedenen Schreibweisen 12

2. Beschreibung der einzelnen Zeichen 13

V. BEZUGSWERKE 14

VI. ANMERKUNGEN 15

ANHANG

INHALTSVERZEICHNIS

	<u>Seite</u>
I. EINLEITUNG	2
II. MATERIAL UND METHODIK	
A) Untersuchungsgut	4
B) Untersuchungsmethoden	4
1. Ortho-Toluidin-Methode	4
2. Hexokinase-Glucose-6-Phosphat-De- hydrogenase-Methode	5
3. System Dextrostix ^R / Reflektometer ^R	6
C) Statistische Auswertung	8
III. ERGEBNISSE	
A) Besprechung der Ergebnisse	10
B) Abbildungen und Tabellen	13
IV. DISKUSSION	
A) Besprechung des vorliegenden Schrifttums	26
B) Besprechung der eigenen Ergebnisse	28
V. ZUSAMMENFASSUNG	31
VI. LITERATURVERZEICHNIS	33
LEBENS LAUF	

I. EINLEITUNG

Die zuverlässigsten Angaben bei der Diagnostik des Diabetes mellitus liefert noch immer der Blutglucosewert. Die bisherigen Methoden zur Blutzuckerbestimmung sind aufwendig und führen erst nach einem längeren Zeitraum zu den erwünschten Resultaten. In jedem Laboratorium stellen dringende Analysen ein ganz besonderes Problem dar, die sich oft nur schwer in das Analysenprogramm einschleusen lassen. Der Gedanke, sie mit Teststreifen durchzuführen, interessiert nicht nur den Arzt am Krankenbett. Auch in dem Krankenhausbetrieb können solche Schnelltests wertvolle Zeit sparen. Diese Methoden, mit denen die Blutglucose halbquantitativ mittels Teststreifen auf enzymatischer Grundlage schnell, einfach und genau bestimmt werden kann, sind seit dem Jahre 1957 bekannt (Clinistix^R).

Mit der Verbesserung dieser Methode durch die Einführung der Dextrostix^R - Teststreifen (1964) gab es erstmals eine Möglichkeit in gewissen diagnostischen Situationen - zum Beispiel am Krankenbett beim Hausbesuch, im Nachtdienst in der Klinik oder in der Notfalldiagnostik - in kurzer Zeit mit geringem Aufwand einen annähernd genauen Blutzuckerwert zu erhalten, wobei sich in jedem Fall eine Hypoglykämie von einer Hyperglykämie unterscheiden ließ (1).

Diesem Vorteil der einfachen Schnellbestimmung steht der Nachteil mangelnder Genauigkeit, verursacht durch Ablesefehler, gegenüber, die durch individuelles Schätzvermögen, Sorgfalt und Erfahrung der Prüfer bestimmt werden. Eine Bestimmung von Blutglucosekonzentrationen über 250 mg/100 ml ist bisher nicht möglich gewesen, weshalb vorgeschlagen wurde, die Reaktionszeit zu ver-

kürzen, um damit Ablesungen bis 600 mg/100 ml vornehmen zu können (2, 3). Die Streuung beträgt allerdings hierbei um 30 % vom Sollwert, weshalb sich auch diese Modifikationen der Methode in der Klinik nicht voll durchsetzen konnten.

Dies alles schränkte die Brauchbarkeit der Dextrostix-Methode für den praktizierenden Arzt zur Behandlung schlecht eingestellter Diabetiker und für die klinische Notfallbehandlung in Hinblick auf Praecoma und Coma diabeticum ein. Durch reflektometrische Auswertung der herkömmlichen Teststreifen in einem dafür neu entwickelten Gerät (Reflektometer, Ames) soll eine präzise Schnellbestimmung der Blutglucose bis zu Konzentrationen von 1000 mg/100 ml möglich sein, die große Bedeutung für eine schnelle Comadiagnostik und eine annähernd genaue Verlaufskontrolle gewinnen könnte.

Ziel dieser Arbeit war die Prüfung dieses Apparates in Hinblick auf die klinische Brauchbarkeit, wobei die Ergebnisse der damit untersuchten Blutproben in Relation zu herkömmlichen Bestimmungen gesetzt und statistisch ausgewertet wurden.

II. MATERIAL UND METHODIK

A) Untersuchungsgut

An 782 stationären und ambulanten Diabetikern (ausschließlich Patienten in gutem Allgemeinzustand ohne wesentliche Begleiterkrankungen) wurden insgesamt 1.043 vergleichende Bestimmungen der Blutglucose mit jeweils zwei verschiedenen Methoden durchgeführt. Als Referenzmethode diente in 632 Fällen die Hexokinase-Methode, in 411 Fällen die Ortho-Toluidin-Methode. Die Blutentnahme erfolgte aus Fingerbeere und Ohr-Läppchen, es wurde also nur arteriovenöses Mischblut verwendet. Zunächst erfolgte die Blutentnahme für die Blutglucosebestimmung durch die Referenzmethode, daran schloß sich aus derselben Wunde die Blutentnahme für den Schnelltest an. Es wurden nur Blutproben zur Bewertung herangezogen, bei denen kein Auspressen des Bluttröpfens notwendig war und bei denen, wie für den Schnelltest vorgeschrieben, ein sehr großer Bluttröpfen zur Verfügung stand. In manchen Fällen wurde bei nicht optimaler Abnahme eine zweite Bestimmung durchgeführt. Alle Bestimmungen durch den Schnelltest wurden nur von einer Person durchgeführt, wobei zur Einübung ca. 100 Probebestimmungen vor Beginn der eigentlichen Untersuchung erfolgten.

B) Untersuchungsmethoden

1) Ortho-Toluidin-Methode

Neben den sehr spezifischen enzymatischen Methoden der Bestimmung von Monosacchariden, für die die einzelnen Enzyme im Handel erhältlich sind, können auch unspezifische Reaktionen zum Nachweis verwendet werden, wenn störende Substanzen fehlen oder entfernt werden. Die

Furfurolreaktionen sind relativ spezifisch für Zucker. Bei Erhitzen in stark saurem Medium bilden sich aus Pentosen und Hexosen Furfurol bzw. Methoxyfurfurol. Durch Kondensation mit Phenolen entstehen gefärbte Verbindungen, die photometrisch gemessen werden können. Neuerdings wird besonders Ortho-Toluidin in konzentrierter Essigsäure zum Glucosenachweis herangezogen (4). Mit Ortho-Toluidin bildet Hydromethylfurfurol eine sogenannte Schiff'sche Base, ein Komplex von blaugrüner Farbe, dessen Extinktionsmaximum etwa bei 623 m μ liegt. Glucose, Mannose und Galaktose sprechen etwa gleich stark auf die Reaktion an.

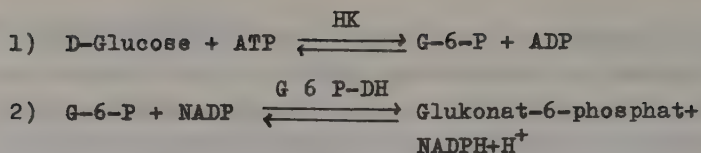
Zur Enteiweißung wird 3 % Trichloressigsäure verwendet. Das Farbreagens besteht aus o-Toluidin und Eisessig, und zusätzlich (als Stabilisator) 0,15 % Thioharnstoff.

Durchführung:

0,1 ml Blut wird in 1,0 ml 3 %iger Trichloressigsäure enteiweißt, dann wird 5 Minuten bei 3.000 u/min zentrifugiert. Vom Überstand werden 0,5 ml mit 3,0 ml O-Toluidinreagens versetzt und 8 Minuten in kochendem Wasserbad erhitzt. Nach Abkühlung auf Zimmertemperatur wird am Photometer mit dem Hg-Filter 623 m μ die Extinktion abgelesen.

2) Hexokinase-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Methode im Autoanalyzer

Glucose wird durch Hexokinase bei Vorhandensein von ATP zu Glucose-6-Phosphat phosphoryliert. Glucose-6-Phosphat wird durch Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase in Gegenwart von NAD zu 6-Phosphor-Gluconsäure oxydiert. Die Reaktion verläuft stöchiometrisch, so daß das entstehende NADPH der oxydierten Glucose äquivalent ist. NADPH kann bei 340 oder 366 nm am Photometer gemessen werden.



Durchführung:

In einem Zentrifugenglas mit 1,0 ml 3,6 % Perchlorsäure wird zur Enteiweißung 0,1 ml Kapillarblut eingeblasen.

Die photometrische Auswertung erfolgte mittels Autoanalyser (4, 5).

3) Dextrostix/Reflektometer-Methode (Ames)

Der Schnelltest mit Dextrostix-Teststreifen beruht auf der enzymatischen Glucoseoxydasereaktion. Bei dieser Reaktion wird Glucose durch Glucoseoxydase zu Glukonsäure oxydiert. Das dabei entstehende Wasserstoffperoxyd wird durch Peroxydase in Gegenwart eines geeigneten Wasserstoffdonators (Farbstoff) zu Wasser reduziert. Die Farbentwicklung gehorcht dem Lambert-Beerschen Gesetz, d.h., die Farbintensität ist der vorhandenen Glucose direkt proportional. Die entwickelte Farbintensität wurde bisher mit einer beiliegenden Farbskala verglichen und damit eine Zuordnung in sechs Blutzuckerbereiche (45 - 90, 91 - 130, 131 - 175, 176 - 250, über 250 mg/100 ml) vorgenommen.

Zur genaueren Bestimmung wird nun der Teststreifen mittels Reflektometer (Ames) ausgewertet. Das Ames Reflektometer ist ein kleiner, leicht transportabler, mit Photozellen ausgestatteter Apparat, der mit aufladbarer Batterie betrieben wird. Gemessen wird die in Abhängigkeit von der Farbintensität des Teststreifens variable Reflexion des Lichtstrahles einer Photozelle. Das Gerät ist mit Skalen verschiedener Blutglucosebereiche versehen.

Es gibt einstellbare Skalenbereiche von 10 - 70, 70 - 180, 180 - 1.000 mg/100 ml Glucose. Ferner gibt es eine Skala zur Prüfung des Ladungszustandes der Batterie.

Durchführung:

Zunächst wird der Ladungszustand des Gerätes auf der hierfür vorgesehenen Skala überprüft. Dann wird mittels der beigegebenen Eichstäbchen das Gerät mehrmals auf den Eichwert (110 mg/100 ml) eingestellt. Auf diese Maßnahme ist große Sorgfalt zu verwenden, da die kleinste Erschütterung des Gerätes eine neue Eichung notwendig macht. Vor jeder weiteren Messung ist erneut zu eichen, also auch bei Reihentests. Aus der durch sterile Lanzette gesetzten Wunde der Fingerbeere oder der Ohrfläppchen wird nach Verwerfung des ersten Tropfens ein möglichst großer Tropfen Blut direkt auf die "empfindliche" Fläche des Teststreifens gegeben und zwar so, daß die gesamte Fläche des Streifens bedeckt ist. Genau 60 Sekunden später wird kurz mit einem Strahl destilliertem Wasser das Blut abgewaschen. Der Wasserstrahl soll dabei nicht direkt auf die präparierte Fläche des Streifens treffen, sondern oberhalb davon, damit möglichst kein Farbstoffgemisch ausgewaschen wird. Danach wird der Streifen kurz zwischen zwei Blättern Filterpapier getrocknet. Insgesamt sollen nicht mehr als 5 Sekunden nach Ablauf der 60 Sekunden vergehen, bis der Teststreifen in das Gerät eingegeben ist und abgelesen werden kann. Wir stellten bei unseren Untersuchungen fest, daß nach Eingabe des Streifens der Ausschlag des Zeigers noch einige Sekunden bis zum Stillstand wanderte, so daß wir erst dann die Ablesung vornahmen. Wiederholt fanden sich Teststreifen, die in ihrer Breite von den übrigen abwichen. Diese wurden deshalb nicht zur Bewertung herangezogen.

C) Statistische Auswertung

Aus den Einzelwerten wurden Mittelwerte errechnet.

$$\text{Mittelwert} \quad \bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

$\sum x_i$ = Summe der Einzelwerte

n = Anzahl der Werte

daraus die Standardabweichung des Einzelwertes

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{(n - 1)}}$$

In den Tabellen und Abbildungen sind aufgeführt:

Der Mittelwert ($\bar{x}$), die Standardabweichung des Einzelwertes vom Mittelwert; weiterhin wurden zwei voneinander abhängige Größen beurteilt, d.h. eine Variable wird als unabhängig (x), die andere als abhängig betrachtet (y). y ist somit eine Funktion von x . Liegt eine Stichprobe von Beobachtungen (x_1, y_1) (x_2, y_2) ... (x_n, y_n) aus einer zweidimensionalen Gesamtheit vor, so ist es am besten, wenn wir diese Zahlenpaare als Punkte in die xy -Ebene in der üblichen Weise eintragen. Stellt sich dabei heraus, daß diese Punkte nahezu auf einer Geraden liegen, so können wir eine solche "Ausgleichsgerade" oder Regressionsgerade von y bezüglich x eigentlich schon ohne Mühe nach Augenmaß zeichnen. Zur objektiven Bestimmung dieser Geraden wird das Gaussche Prinzip der kleinsten Quadrate herangezogen, d.h. die Gerade ist so zu legen, daß die Summe der Quadrate aller Abstände unserer Punkte von der Geraden möglichst klein wird. Man kommt so zu der errechneten Regressionsgeraden mit folgender Formel:

$$y - \bar{y} = b (x - \bar{x})$$

wobei das Steigungsmaß der Geraden als Regressionskoeffizient bezeichnet wird, und wie folgt berechnet wird:

$$b = \frac{S_{xy}}{(S_1)^2}$$

S_{xy} = Kovarianz der Stichprobe

S_1 = Varianz der x-Werte

Anschließend wird das Konfidenzintervall für den Regressionskoeffizienten für eine Konfidenz von 95 % bestimmt.

Betrachtet man die Beziehungen zwischen zwei Zufallsvariablen x und y , ohne die eine als abhängig und die andere als unabhängig anzusehen, so spricht man von der Korrelation zwischen x und y .

Der Quotient $r = \frac{S_{xy}}{S_1 \cdot S_2}$ heißt Korrelations-

koeffizient der jeweiligen Stichprobe. S_1 bedeutet Streuung der x -Werte, S_2 Streuung der y -Werte. S_{xy} ist die Kovarianz der Stichprobe. Die Stichprobenwerte liegen auf einer Geraden, wenn der zugehörige Korrelationskoeffizient den Wert $+1$ oder -1 hat.

Anschließend wurden auch hier die Konfidenzintervalle für den jeweiligen Korrelationskoeffizienten bestimmt (6).

III. ERGEBNISSE

A) Besprechung der Ergebnisse

Trägt man, wie in den Abbildungen 1. und 2. geschehen, in einem Koordinatensystem die Ergebnisse der Versuchsmethode (= Reflektometer) gegen jene der Referenzmethode (Ortho-Toluidin, Abb. 1, bzw. Hexokinase, Abb. 2) auf, so läßt sich durchaus eine lineare Abhängigkeit der beiden Methoden erkennen. Tatsächlich errechnet sich zwischen Ortho-Toluidin-Methode und Reflektometer-Methode eine Regressionsgerade mit der Formel

$$y = 1,05 x - 23,23$$

und ein Korrelationskoeffizient von

$$r = 0,936 \pm 0,02 \quad (p < 0,05)$$

und zwischen Hexokinase-Methode und Versuchsmethode die Regressionsgerade

$$y = 1,04 x - 19,53$$

und die Korrelation

$$r = 0,957 \pm 0,022$$

(s. Tab. 1).

Die Steigungen der jeweiligen Regressionsgeraden von $1,05 \pm 0,036$ bzw. $1,04 \pm 0,025$ weichen nur gering von 1 (Steigung der 45° Achse) ab. Die Regressionsgeraden gehen nicht durch den Nullpunkt, was auf einen Systemfehler der Versuchsmethode schließen läßt. Dies führt bei Werten der Referenzmethoden bis ca. 200 mg/100 ml zu insgesamt niedrigeren Konzentrationen bei der Versuchsmethode, und zwar um durchschnittlich 20 - 25 mg/100 ml.

Der höchste mit der Hexokinase-Methode gemessene Wert war 528 mg/100 ml, der entsprechende Wert der Versuchsmethode 510 mg/100 ml. Beim Vergleich der Ortho-Toluidin-Methode mit der Versuchsmethode betrugen die höchsten gemessenen Werte 520 mg/100 ml bzw. 485 mg/100 ml. Die statistischen Mittelwerte beim Vergleich Ortho-Toluidin- und Versuchsmethode waren

$(n = 411) 192,8 \pm 81,2 (\bar{x} \pm s)$ und $179,0 \pm 91,0 (\bar{y} \pm s)$

beim Vergleich Hexokinase- und Versuchsmethode

$(n = 632) 193,7 \pm 82,8 (\bar{x} \pm s)$ und $182,0 \pm 90,0 (\bar{y} \pm s)$

(s. Tab. 2).

Die oben angewandten statistischen Begriffe der Regressions- und Korrelationskoeffizienten sagen leider nicht genug über die Verlässlichkeit eines Einzelwertes aus, denn sie sind von der Anzahl der Versuche abhängig. Bei hohem n sind somit günstigere Übereinstimmungen zu erwarten. Deshalb wurden die Meßwertepaare in einzelne Blutzuckerbereiche aufgeteilt, die den alten Schätzbereichen der Teststreifen entsprechen (45 - 90, 91 - 130, 131 - 175, 176 - 250, 251 - 300, >300). Die dabei errechneten Korrelationskoeffizienten der einzelnen Bereiche zeigten eine deutlich schlechtere Übereinstimmung der Meßwerte, dies besonders im Bereich 90 - 175 mg/100 ml. Immerhin nimmt bei höheren Glucosekonzentrationen die Übereinstimmung wieder zu. So fanden sich im Bereich über 300 mg/100 ml noch Korrelationen von 0,79 (Vergleich mit Hexokinase) und 0,76 (Vergleich mit Ortho-Toluidin) - (s. Tab. 3).

Um mehr über die Verlässlichkeit eines Einzelwertes aussagen zu können, wurden in den oben aufgeführten Blut-

zuckerbereichen die doppelten Standardabweichungen des Mittelwertes von Versuchs- und Referenzmethoden bestimmt und zueinander graphisch in Beziehung gebracht (Abb. 3 und 4). Beim 2s-Bereich des Mittelwertes liegen in einer Normalverteilung 95 % aller zugehörigen Werte in diesem Bereich, mit 5 % falschen Werten muß auch hier noch gerechnet werden. Es zeigt sich, daß selbst bei der Referenzmethode sich die 2s-Bereiche überlappen, was definitionsgemäß eigentlich nicht möglich sein kann. Die Erklärung dafür ist, daß die Gesamtheit der Meßwerte nicht einer echten Normalverteilung entspricht. Wie man sehen kann, führt dies zu einer ausgeprägten Überlappung der 2s-Bereiche bei der Versuchsmethode. Dennoch läßt sich sagen, daß zwei solche Bereiche, die durch einen dritten voneinander getrennt sind, sich nicht mehr überlappen. So kann zum Beispiel der Vergleichswert der Versuchsmethode nicht unter 90 mg/100 ml und nicht über 250 mg/100 ml liegen, wenn der Wert der Referenzmethode im Bereich 131 - 175 mg/100 ml liegt (Tab. 2).

Bei der Durchführung von 11 oralen Glucosebelastungen zeigte sich eine scheinbar sehr befriedigende Übereinstimmung von reflektometrischer Messung und Referenzmethode:

In zehn Fällen gab es identische Testbewertungen, nur in einem Fall führte das Ergebnis der reflektometrischen Messung zu einem falsch negativen Ergebnis. Das spräche für eine Genauigkeit von über 90 %, jedoch läßt die geringe Anzahl dieser Tests keine statistische Aussage zu. In Abbildung 7 sind die Mittelwerte von Referenz- und Versuchsmethode bei den 11 Glucosebelastungstests aufgetragen. Hier fällt vor allem das Auseinanderklaffen des 90- und 120 Minutenwertes der beiden Methoden auf. Für den bedeutsamen 120 Minutenwert errechnete sich für die Referenzmethode ein Mittelwert von 143 mg/

100 ml und für die reflektometrische Messung ein Mittelwert von 123 mg/100 ml, d.h., daß gerade im diagnostisch entscheidend wichtigen Bereich zwischen 120 und 140 mg/100 ml beim 120 Minutenwert eine Differenz von 20 mg/100 ml zwischen beiden Methoden auftritt.

B) Abbildungen und Tabellen

- Abbildung 1: Vergleich von Blutglucosewerten der Dextrostix/Reflektometer-Methode und der Ortho-Toluidin-Methode (n = 411)
Darstellung der Regressionsgeraden
- Abbildung 2: Vergleich von Blutglucosewerten der Dextrostix/Reflektometer-Methode und der Hexokinase-Methode (Autoanalyzer) (n = 632)
Darstellung der Regressionsgeraden
- Abbildung 3: Fehlerbreiten der Meßbereiche bei Bestimmung der Blutglucose mit dem Reflektometer im Vergleich zur Referenzmethode (Ortho-Toluidin-Methode)
Dargestellt sind jeweils die 2s-Bereiche beiderseits der Mittelwerte
- Abbildung 4: Fehlerbreiten der Meßbereiche bei Bestimmung der Blutglucose mit dem Reflektometer im Vergleich zur Referenzmethode (Hexokinase-Methode)
Darstellung der 2s-Bereiche

Abbildung 5: Mittelwerte verschiedener Blutzuckerbereiche in Beziehung zur Regressionsgeraden
(Vergleich Reflektometer - Ortho-Toluidin-Methode)

Abbildung 6: Mittelwerte verschiedener Blutzuckerbereiche in Beziehung zur Regressionsgeraden
(Vergleich Reflektometer - Hexokinase-Methode)

Abbildung 7: Darstellung der Mittelwerte von 11 oralen Glucosebelastungen
(Vergleich Reflektometer - Ortho-Toluidin-Methode)

Tabelle 1: Korrelations- und Regressionskoeffizienten bei Anwendung des Reflektometers im Vergleich zur Referenzmethode

Tabelle 2: Mittelwerte und doppelte Fehlerbreiten von Versuchs- und Referenzmethoden in verschiedenen Blutzuckerbereichen (mg/100 ml)

Tabelle 3: Korrelationskoeffizienten in den verschiedenen Blutzuckerbereichen

VERGLEICH VON BLUTGLUCOSEWERTEN DER DEXTROSTIX / REFLEKTOMETER - METHODE UND DER o-TOLUIDIN - METHODE. $n = 411$

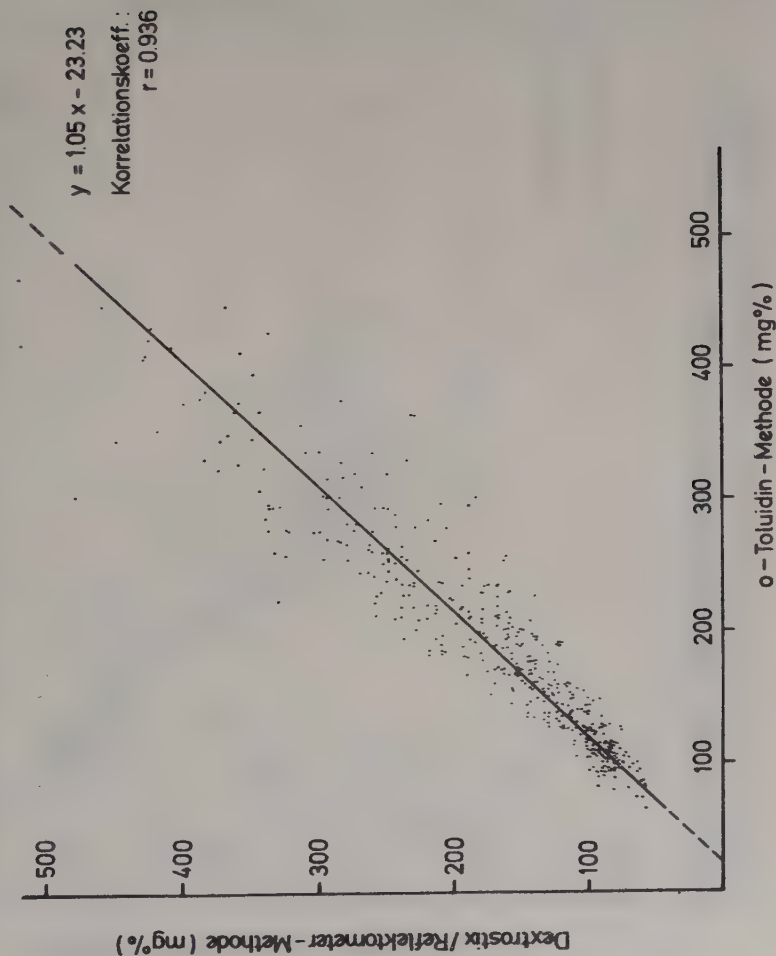


Abb.1

VERGLEICH VON BLUTGLUCOSEWERTEN DER DEXTROSTIX / REFLEKTOMETER - METHODE UND DER HEXOKINASE - METHODE (AUTOANALYZER). $n = 632$

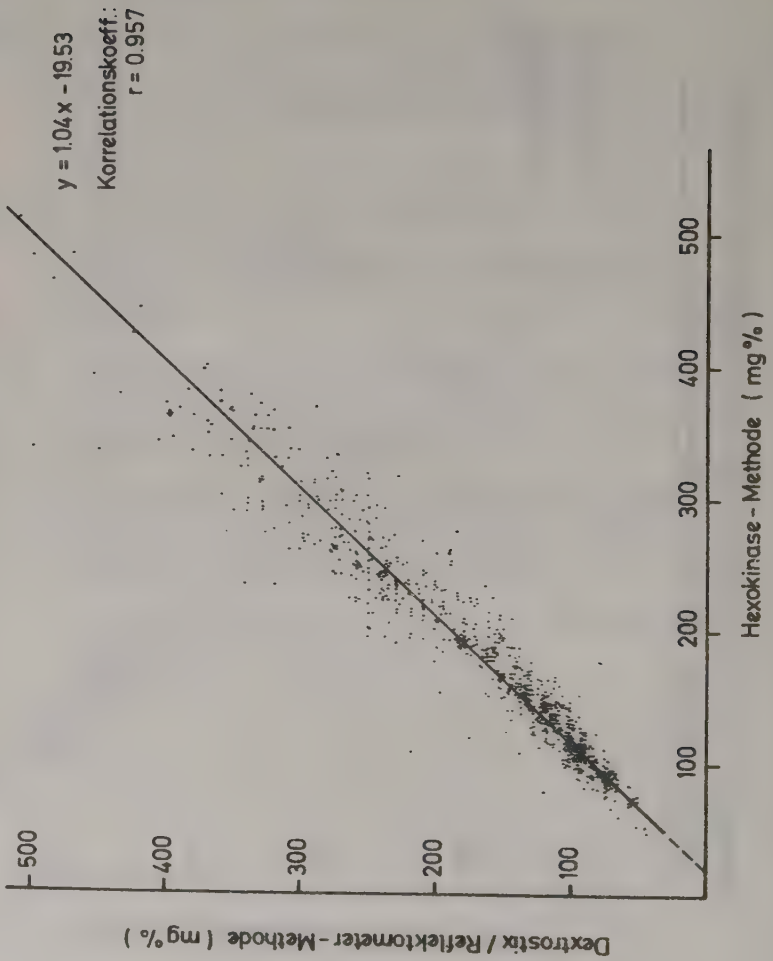


Abb. 2

FEHLERBREITEN DER MESSBEREICHE BEI BESTIMMUNG DER
BLUTGLUCOSE MIT DEM REFLEKTOMETER IM VERGLEICH ZUR RE-
FERENZMETHODE (o-TOLUIDINMETHODE)

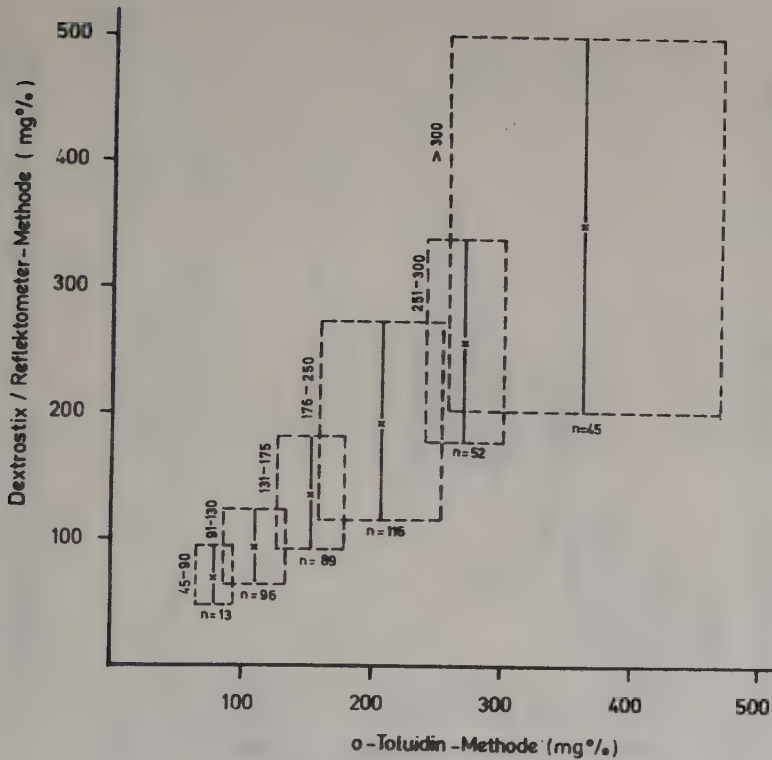


Abb.3

*FEHLERBREITEN DER MESSBEREICHE BEI BESTIMMUNG DER
BLUTGLUCOSE MIT DEM REFLEKTOMETER IM VERGLEICH ZUR RE-
FERENZMETHODE (HEXOKINASEMETHODE)*

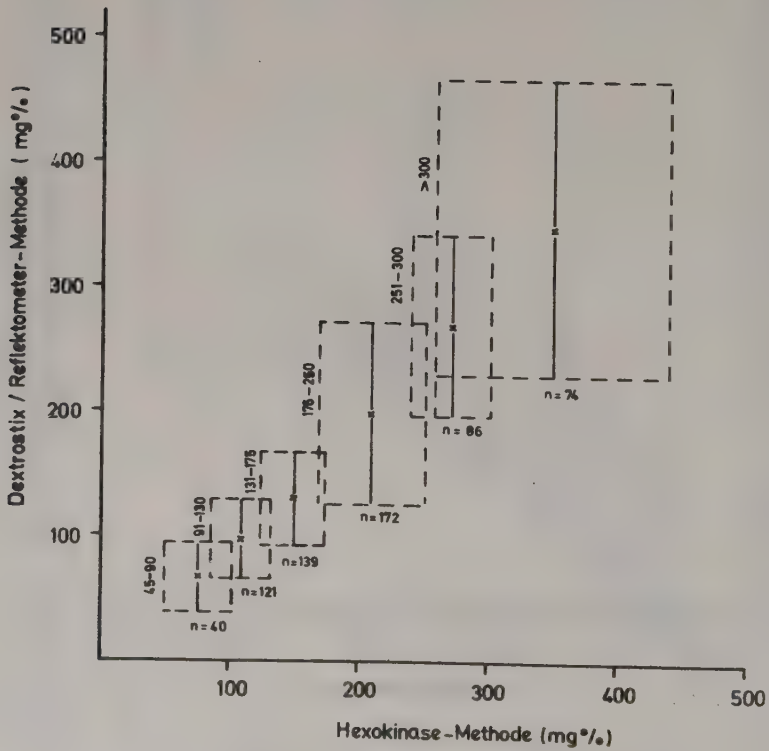


Abb.4

MITTELWERTE VERSCHIEDENER BLUTZUCKERBEREICHE
IN BEZIEHUNG ZUR REGRESSIONSGERADEN

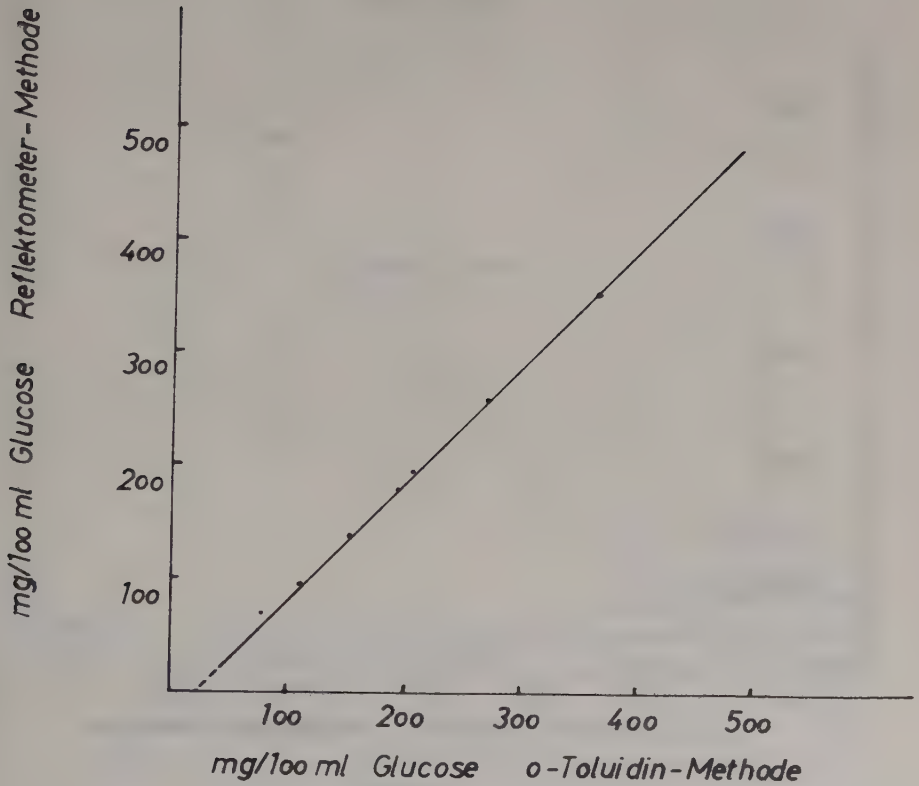


Abb. 5

MITTELWERTE VERSCHIEDENER BLUTZUCKERBEREICHE
IN BEZIEHUNG ZUR REGRESSIONSGERADEN

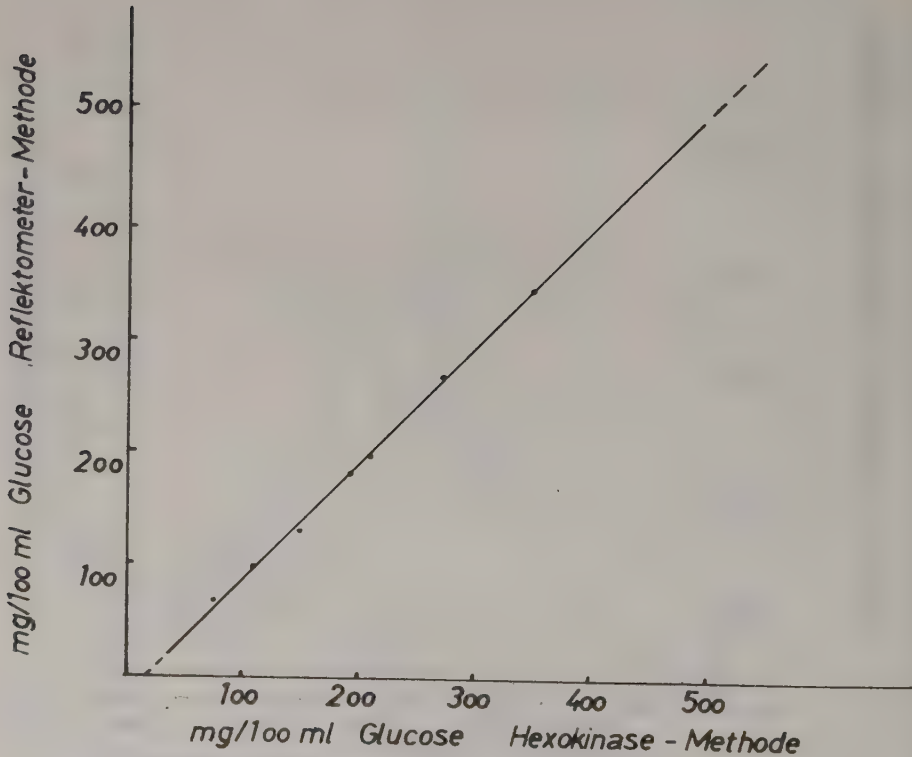


Abb. 6

VERGLEICH VON VERSUCHS-UND REFERENZMETHODE BEI 11 ORALEN GLUCOSETOLERANZTESTS

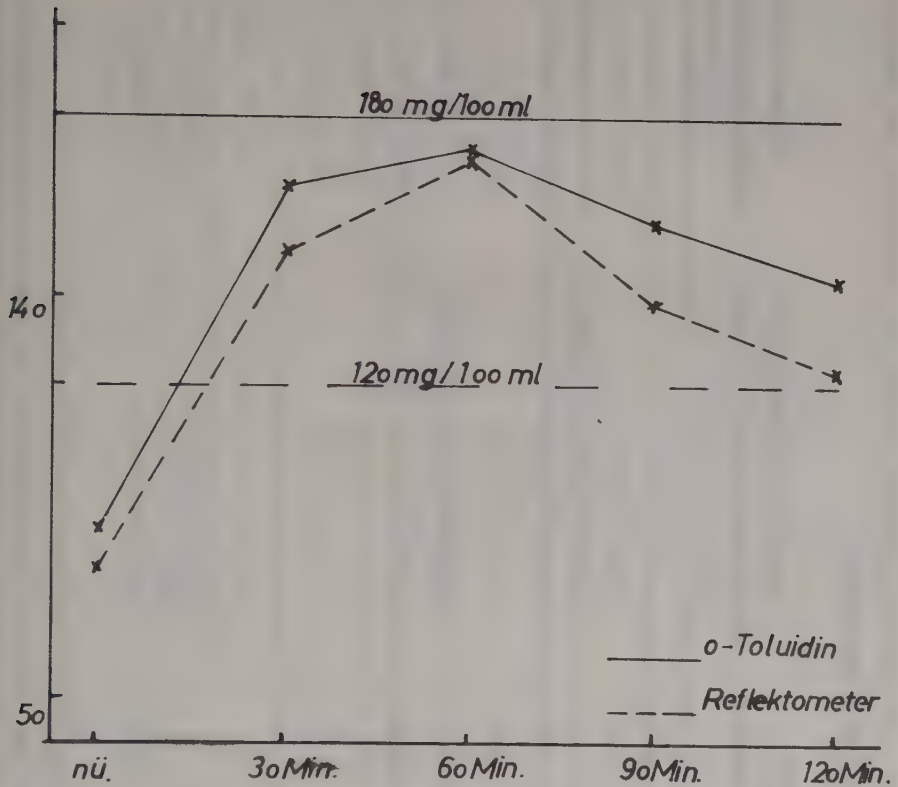


Abb. 7

Tabelle 1: Korrelations- und Regressionskoeffizienten bei Anwendung des Reflektometers im Vergleich zur Referenzmethode

	Anzahl der Stichproben n	Korrelationskoeffizient 1. Konfidenzintervall ($p < 0,05$) { -1 ≤ r ≤ + 1 }	Regressionskoeffizient 1. Konfidenzintervall ($p < 0,05$) { -1 ≤ b ≤ + 1 }
Ortho-Toluidin gegen Reflektometer	411	{ 0,916 ≤ 0,936 ≤ 0,956 }	{ 1,014 ≤ 1,05 ≤ 1,086 }
Hexokinase gegen Reflektometer	632	{ 0,935 ≤ 0,957 ≤ 0,979 }	{ 1,015 ≤ 1,04 ≤ 1,065 }

Tabelle 2: Mittelwerte und doppelte Fehlerbreiten von Versuchs- und Referenzmethoden in verschiedenen Blutzuckerbereichen (mg/100 ml)

Bereiche der gebildeten Gruppen	Anzahl (n)	Referenzmethode Hexokinasen Mittelwerte und doppelte Fehlerbreite $\bar{x} \pm 2s$ ($p < 0,05$)	Versuchsmethode Reflektanzen Mittelwerte und doppelte Fehlerbreite $\bar{y} \pm 2s$ ($p < 0,05$)
mg/100 ml			
45 - 90	40	76,2 $\pm$ 26,4	68,0 $\pm$ 29,6
91 - 130	121	110,1 $\pm$ 22,4	97,0 $\pm$ 31,6
131 - 175	139	149,8 $\pm$ 24,8	130,1 $\pm$ 37,1
176 - 250	172	210,9 $\pm$ 42,4	197,9 $\pm$ 72,3
251 - 300	86	272,1 $\pm$ 30,1	267,9 $\pm$ 71,7
>300	74	351,0 $\pm$ 90,3	346,0 $\pm$ 118,2
Gesamtbereich	632	193,7 $\pm$ 165,7	182,0 $\pm$ 180,0

Bereiche der
gebildeten Gruppen

Anzahl
(n)

Referenzmethode
O r t h o - T o l d i n

Versuchsmethode
R e f l e c t a n c e M e t e r

Mittelwerte und
doppelte Fehlerbreite

Mittelwerte und
doppelte Fehlerbreite

mg/100 ml

45 - 90	13	78,8 ± 13,6	71,3 ± 22,8
91 - 130	96	109,8 ± 23,6	94,8 ± 29,6
131 - 175	89	152,1 ± 25,6	137,2 ± 44,2
176 - 250	116	206,3 ± 47,0	194,7 ± 78,7
251 - 300	52	270,5 ± 29,9	258,8 ± 82,2
>300	45	363,1 ± 105,3	353,1 ± 149,8

Gesamtbereich 411 192,8 ± 162,5 179,0 ± 182,1

Tabelle 3: Korrelationskoeffizienten in den verschiedenen
Blutzuckerbereichen

	Hexokinase- Versuchsmethode Korrelationskoeffizient	Ortho-Toluidin- Versuchsmethode Korrelationskoeffizient
45 - 90	0,85	0,84
91 - 130	0,71	0,71
131 - 175	0,76	0,70
176 - 250	0,84	0,82
251 - 300	0,89	0,85
>300	0,79	0,76

IV. DISKUSSION

A) Besprechung des vorliegenden Schrifttums

In den ersten vorliegenden Arbeiten fanden sich zumeist günstige Beurteilungen der reflektometrischen Messung. Jarrett und Mitarbeiter (7) errechneten mit 122 untersuchten Blutproben einen Korrelationskoeffizienten von $r = 0,98$ zur Referenzmethode (Autoanalyzer, Ferricyanidmethode) und verzeichneten bei der reflektometrischen Messung im Bereich von 80 - 200 mg/100 ml geringere Konzentrationen als die Referenzmethode erbrachte. Weitere statistische Angaben fehlen; deshalb läßt sich die Lage der Regressionsgeraden in der dargestellten Graphik nur abschätzen. Diese Regressionsgerade würde nicht durch den Nullpunkt des Koordinatensystems gehen, und somit darauf hinweisen, daß die Reflektometer-Methode um 30 - 40 mg/100 ml geringere Konzentrationen ermittelt. Dennoch geben die Autoren eine sehr befriedigte Beurteilung über diese Methode ab. Mazzaferri und Mitarbeiter (8) setzten das Gerät bei 34 Glucosetoleranztests ein, wobei in 94 % identische Testbewertungen zwischen Versuchs- und Vergleichsmethode (Autoanalyzer, Ferricyanid-Methode) vorlagen. Der Korrelationskoeffizient war in verschiedenen Bereichen zwischen 0,58 - 0,90 und insgesamt 0,84. Auch hier muß auf Grund fehlender statistischer Angaben bei Betrachtung der Graphik auf einen Systemfehler von über 40 mg/100 ml geschlossen werden, der in dieser Untersuchung aber zu höheren Werten gegenüber der Referenzmethode führt. Wiederum werden hier sehr günstige Empfehlungen für die Reflektometer-Methode ausgesprochen. Balazs (9) bestätigte diese ersten Ergebnisse mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0,977$ (Autoanalyzer, Ferricyanid-Methode). Ein äußerst niedriger Variationskoeffizient von durchschnittlich 3,5 % und eine Korrelation von $r = 0,98 - 0,99$ (Ortho-Toluidin-Methode) ver-

anlaßten Schütz und Maute (10) dazu, die reflektometrische Messung mit exakten photometrischen Bestimmungen gleichzusetzen, obwohl ein nicht unbeträchtlicher Teil der Einzelwerte über die 10 %-Grenze streute. Als erster konnte Mehnert mit einer enzymatischen Referenzmethode (Hexokinase- und Ortho-Toluidin-Methode) auf Grund einer orientierenden Voruntersuchung die geringe Fehlerbreite der Methode bestätigen (11). Von Kattermann und Schlaeger (12) liegen die ersten sehr präzisen und kritischen Angaben zur reflektometrischen Messung vor. Sie beschreiben einen systematischen Fehler von ca. 30 - 40 mg/100 ml, um den die Methode niedrigere Werte liefert. Bei zwei Serien waren die ermittelten Regressionsgeraden $\bar{y} = 0,94x + 38,6$ bzw. $y = 0,95x + 32,2$ und die Korrelationen $r = 0,81$ bzw. $r = 0,95$. Die absolut ungenügende Ein-Punkt-Eichung des Gerätes (bei 110 mg/100 ml) könnte diesen Fehler verursachen. Auch Balazs (9) hat dies in seiner Arbeit bemängelt und für alle drei Meßbereiche eine Eichmöglichkeit gefordert. Von den überoptimistischen Schlußfolgerungen aus den bisherigen klinischen Prüfungen distanziert sich Kutter (13) auf Grund einer sehr kritischen Überprüfung der bis heute vorliegenden Arbeiten, ohne allerdings eigenes Zahlenmaterial vorzulegen. Aus seinen bisher gewonnenen Erfahrungen mit dem Gerät sei festzustellen, daß die Werte deutlich niedriger seien als die der Vergleichsmethode (Ortho-Toluidin). Interessant sind seine Angaben über den Einfluß des Hämatokritwertes auf die Reflektometer-Werte. Mit steigendem Hämatokrit sind demzufolge erheblich niedrigere Ergebnisse durch das Reflektometer zu erwarten. Daraus resultiert die Forderung, das Gerät nicht bei Patienten mit erheblichen Störungen des Elektrolyt- und Wasserhaushaltes bzw. des blutbildenden Systems einzusetzen, was wir ganz unabhängig von dieser Veröffentlichung bei der Auswahl des Patientengutes beachtet hatten. Ganz allgemein wird betont, welche Bedeutung der gewissenhaften Beachtung der Bedienungsvorschriften

ten zukommt. Die wichtigsten Punkte sind hierbei:

1. Die Reaktionsfläche der Stäbchen muß vollständig mit Blut bedeckt sein. Versuche mit der Auftragung des Blutes aus Glaskapillaren, was technisch einfacher zu handhaben ist, haben zu besseren Ergebnissen geführt.
2. Die Reaktionszeit von 60 Sekunden muß genau eingehalten werden.
3. Das Abspülen mit Aqua dest. darf nur wenige Sekunden (1 - 3) in Anspruch nehmen, da sonst zu viel Reaktionsgemisch, d.h. auch Farbstoff ausgewaschen wird.

B) Besprechung der eigenen Ergebnisse

Wie schon zu Beginn erwähnt, wurden die Messungen am Reflektometer ausschließlich von einer Person vorgenommen. Eine intensive Einarbeitung und eine Voruntersuchung von mehr als 100 Blutproben, welche nicht zur endgültigen Bewertung herangezogen wurden, sollte Fehler durch mangelhafte Untersuchungstechnik weitgehend ausschließen. Wie sich ergab, ist eine solche Einarbeitung unumgänglich, denn so einfach die Technik der Messung zu sein scheint, so sehr sind Möglichkeiten zu Fehlbestimmungen vorhanden, die sich erst mit zunehmender Routine vermindern. Man muß deshalb Kutter (13) zustimmen, der darauf hinweist, daß zwar der observer error ausgeschaltet sein mag, die übrigen Fehlerquellen - besonders das Beschießen des Streifens, die Reaktionszeit, das Abwaschen, das Abtrocknen des Streifens - aber unbeeinflusst bleiben.

Wie nach den Informationen über den Einfluß des Hämatokritwertes auf reflektometrische Messung zu fordern ist, haben wir keine Blutproben von Patienten verwandt, bei de-

nen Störungen des blutbildenden Systems bzw. des Wasser- und Elektrolythaushaltes vorlag.

An Fehlermöglichkeiten außer den oben angeführten bei mangelhafter Untersuchungstechnik ist zu erwähnen, daß sich bei uns in verschiedenen Streifen-Chargen fast regelmäßig Teststreifen fanden, die in ihrer Breite von den anderen abwichen. Man sollte also darauf achten, und zu schmale oder zu breite Streifen verwerfen, da sie deutliche Abweichungen gegenüber den normal breiten Streifen ergeben. Es wäre ferner sehr zu wünschen, daß der Hersteller der Streifen⁺⁾ das Herstellungs- oder Verfallsdatum auf den Packungen vermerkt, um so mögliche Fehlbestimmungen auszuschließen.

Leider war es nicht möglich, bei allen Messungen mit zwei Referenzmethoden zugleich zu arbeiten. Dies geschah lediglich bei 63 Blutproben, wobei zwischen den beiden Referenzmethoden eine sehr gute Korrelation ($r = 0,99$) vorlag. Es erscheint deshalb unwahrscheinlich, daß gravierende Fehlbestimmungen bei den Referenzmethoden auftraten, und damit der Versuchsmethode angelastet wurden.

Unsere Ergebnisse bestätigen im wesentlichen die oben aufgeführten günstigen Bewertungen der Versuchsmethode. Die berechneten Korrelationen entsprechen denen der anderen Autoren. Der von uns gefundene Systemfehler liegt mit durchschnittlich 20 - 25 mg/100 ml niedriger als bisher beschriebene (12, 13). Ob für diesen Systemfehler die ungenügende Ein-Punkt-Eichung allein verantwortlich zu machen ist, kann hier nicht schlüssig geklärt werden. Möglicherweise bedingen auch die Teststäbchen einen bisher nicht erkannten Fehler.

Bei der Bewertung der klinischen Brauchbarkeit des Gerätes sollte man sich der Möglichkeiten bewußt sein, die zu Fehlbestimmungen führen können und im bisher Beschrie-

⁺⁾ Pa. Ames, Frankfurt

benen angeführt sind. Es ist außerdem festzuhalten, daß diese Methode immer noch nicht herkömmliche, quantitative Bestimmungen der "wahren Glucose" ersetzen kann, und soll, zumal auch keine exakt abgemessenen Blutmengen verwendet werden. Der entscheidende Gewinn der reflektometrischen Messung gegenüber der alten subjektiven Bewertung der Teststäbchen ist darin zu sehen, daß nun Konzentrationen der Blutglucose über 250 mg/100 ml hinaus mit befriedigender Genauigkeit erfaßt werden können, so daß sich am Krankenbett sofort eine Aussage über den Schweregrad einer Blutzuckerentgleisung machen läßt. Sollten die unbedingt notwendigen Verbesserungen, wie Eichmöglichkeit in allen Bereichen, Wartungsdienst und Haltbarkeitskennzeichnung der Teststäbchen erfolgt sein, könnte die reflektometrische Messung eine Bereicherung für die Diagnostik und die Verlaufskontrolle des Diabetes mellitus darstellen. Sie wäre ein Gewinn für den praktizierenden Arzt zur groben Verlaufskontrolle ambulanter Patienten und für die Klinik zum Einsatz bei der Notfallsdiagnostik und bei Praecoma und Coma diabeticum. Man sollte das Gerät vorläufig nicht zur subtilen Diagnostik von Frühstadien des Diabetes zum Einsatz bringen, da hierbei die für eine grobe Verlaufskontrolle unerheblichen Streuungen sehr viel mehr zum Tragen kommen. Dies, obwohl Untersuchungen mit günstigen Ergebnissen vorliegen und auch eigene statistisch nicht ausreichend verwertbare Erfahrungen zu befriedigenden Ergebnissen führten.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Bisherige Methoden zur Schnellbestimmung der Blutglucose mittels Teststreifen auf enzymatischer Grundlage hatten u.a. den Nachteil von Irrtümern durch die subjektive Auswertung sowie den weiteren Nachteil, daß eine Bestimmung von höheren Blutglucosekonzentrationen (über 250 mg/100 ml) nicht möglich war. Deswegen wurde ein Gerät zur Auswertung der Teststreifen entwickelt (Reflektometer, Ames), das eine Schnellbestimmung der Blutglucose bis 1.000 mg/100 ml ermöglichen soll. Ziel der vorliegenden Untersuchung sollte sein, die klinische Brauchbarkeit dieses Gerätes zu testen und die dabei erhaltenen Ergebnisse in Relation zu herkömmlichen Bestimmungen der Blutglucose (Hexokinase- und Ortho-Toluidin-Methode) zu setzen.

Insgesamt wurden bei Diabetikern 1.043 Doppelbestimmungen durchgeführt; davon wurden 632 mit der Hexokinase-Methode und 411 mit der Ortho-Toluidin-Methode verglichen. Es ergaben sich Gesamtkorrelationskoeffizienten von 0,975 (Hexokinase) und 0,936 (Ortho-Toluidin). Die Regressionskoeffizienten, d.h. die Steigungen der Regressionsgeraden betrugen 1,04 bzw. 1,05. Generell lagen die gemessenen Werte etwas unter denen der Referenzmethoden. Dies gilt insbesondere für die Werte bis 200 mg/100 ml. Die Formeln der Regressionsgeraden zeigen einen Systemfehler an, welcher 20 - 25 mg/100 ml zu niedere Glucosewerte bedingt. Bei der Einteilung in "Blutzuckergruppen", die nach Farbbereichen der Teststreifen vorgenommen wurde, fanden sich schlechtere Übereinstimmungen. Immerhin waren in der Gruppe von mehr als 300 mg/100 ml Blutglucose noch Korrelationskoeffizienten von 0,79 bzw. 0,76 und Regressionskoeffizienten von 1,03 bzw. 1,08 zu beobachten.

Das Gerät scheint im Augenblick noch nicht technisch ausgereift; bei Schaffung besserer Eichmöglichkeiten und optimaler Wartung dürfte die photometrische Auswertung von Teststreifen eine brauchbare Methode für die Klinik darstellen. Sie erfordert eine strenge Beachtung der Bedienungsvorschriften und eine intensive Einarbeitung. Die Methode liefert in kurzer Zeit befriedigende Ergebnisse für die Behandlung von Diabetikern, insbesondere in Fällen mit stark erhöhten Glucosewerten, die bisher der Schnelldiagnostik nicht zugänglich waren. Für die präzise Erfassung frühdiabetischer Zustände mit Hilfe von Provokationstest erscheint die Methode jedoch nicht geeignet.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

- 1) H. Förster, H. Mehnert
und H. Zilbauer: Wert der Dextrostix-Methode
für die Blutglucosebestim-
mung.
Med. Klinik 61 (1966), 1704
- 2) Kutter, D., M. Leitz: Die Bestimmung hoher Blut-
zuckerwerte mit Dextrostix.
Therapie der Gegenwart 105,
495 (1966)
- 3) Kutter, D.: Schnelltests, 3. Aufl., Mün-
chen/Berlin/Wien 1969
- 4) H. Förster und
H. Mehnert: Kohlenhydratstoffwechsel,
Klinische Pathophysiologie,
Georg Thieme Verlag, Stutt-
gart 1970, 50
- 5) Weiss, L. und
M. Haslbeck: Überwachung des Diabetes,
Diagnostik 4, 398 - 401 (1971)
- 6) E. Kreyszig: Statistische Methoden und ihre
Anwendungen.
3. Auflage, Vandenhoeck u.
Ruprecht, Göttingen
- 7) Jarrett, R.J.,
Keen, H.,
Hardwick, C.: Instant blood sugar measure-
ment using dextrostix and a
reflectance meter. Diabetes
19 (1970), 724
- 8) Mazzaferri, E.L.,
Skillmann, T.G.,
Lanese, R.R. and
Keller, M.P.: Use of test strips with co-
lour meter to measure blood
glucose.
Lancet 331, 1970
- 9) Balazs, N.,
Bradshaw, R.,
Welborn, T.: Use of test strips with co-
lour meter to measure blood
glucose.
Lancet 1232, 1970

- 10) Schütz, W.,
Maute, J.:
Exakte Bestimmung des Blutzuckers
mit Dextrostix und reflektometri-
sche Messung.
Dt. Med. Journal 22 (1971) 784
- 11) Mehnert, H. und
Wieland, O.:
Biochemie und Klinik des Insu-
linmangels.
G. Thieme Verlag (1971), 90
- 12) Kattermann, R.,
Schlaeger, R.:
Schnellbestimmung der Blutglu-
cose mit Dextrostix und einem
neuartigen Reflektometer.
Dt. Med. Wochenschrift, 96
(1971) 1929
- 13) Kutter, D.:
Schnell- und Fertigtests bei der
Rationalisierung im Routinelab-
oratorium.
Diagnostik 5, 264 - 268 (1972)
- 14) Junker, K.,
Ditzel, J.:
Inaccuracy of Test Strips with
Reflectance Meter in Determination
of High Blood-sugars.
Lancet 815, 1972

Herrn Professor Dr. H. Mehnert danke ich für die Überlassung des Thomas. Ihm und Herrn Dr. M. Haslbeck danke ich sehr für wertvolle Ratschläge und Unterstützung bei der Abfassung der Arbeit.

Sehr zu Dank verpflichtet bin ich auch den medizinisch-technischen Assistentinnen im Labor der Station 4 im Krankenhaus München-Schwabing, Fräulein Kose, Fräulein Vorderbrügge, Fräulein Paulus, Frau Müller, Frau Krehut und Frau Burdet, die mir stets sehr hilfsbereit zur Seite standen.

LEBENS LAUF

Eltern: Hans Helmut Simon, Kaufmann in Kempten/Allg.
Elisabeth Simon, geb. Mayer

15. November 1944 in Kempten/Allg. geboren

1951 Eintritt in die Volksschule

1965 Reifeprüfung an der Schule-Schloß-Salem in
Salem/Baden

1965 Immatrikulation an der Freien Universität in
West-Berlin

1966 Naturwissenschaftliche ärztliche Vorprüfung in
Berlin

1966 Immatrikulation an der Universität München

1967 ärztliche Vorprüfung in München

1970 Staatsexamen in München bestanden

1972 Approbation als Arzt

